Aus der Chemischen Anstalt und dem Pharmakologischen Institut
der Universität Basel

DARSTELLUNG UND PHARMAKOLOGIE DES ISOBUTYRYL-3-OXYPHENYL-TRIMETHYLAMMONIUMMETHYLSULFATS UND EINIGER VERWANDTER VERBINDUNGEN

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung der Doktorwürde

der Medizinischen Fakultät der Universität Basel

vorgelegt von

HUBERT BLOCH
von Basel

Basel 1939

Von der Medizinischen Fakultät Basel genehmigt auf Antrag von Prof. Dr. H. Staub. Promotion am 23. Dezember 1938.

R. UNIV. BIBLIOTHEEK LEIDEN

Sonderabdruck aus
„Archiv für experimentelle Pathologie und Pharmakologie"
Band 193, Heft 3

Verlag von F. C. W. Vogel in Berlin

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41546709_0063

Läßt man als Arbeitshypothese die Annahme gelten, daß häufig eine pharmakologische Wirkung mit einer spezifischen Adsorption parallel geht, so wird man zu der Frage geführt, welche Merkmale einer Molekel bei solchen Adsorptionsvorgängen maßgebend sind. Neben Löslichkeit und Azidität sind es sicher bestimmte Strukturen, die über die Adsorbierbarkeit an einer gegebenen Grenzfläche entscheiden. Wenn man nach geeigneten chemischen Modellen für solche spezifischen Adsorptionsvorgänge sucht, so interessiert z. B. der Vorgang des Kristallwachstums in Lösung. Die letzten Jahre haben eine Fülle von Beobachtungen über die Kinetik des Kristallwachstums gebracht, die alle zu der Annahme führen, daß die eigentlichen Vorstufen des Kristallwachstums in Adsorptionserscheinungen gesehen werden müssen.

Es ist nun bekannt, daß ein Kristall aus einem Stoff A nicht nur die gelösten Molekeln a spezifisch adsorbiert und dann in sein Ionen- oder Molekülgitter einlagert, sondern daß die Grenzfläche dieses Kristalls auch für völlig anders gebaute Stoffe B als spezifisches Adsorbens wirkt und nun entweder diese Molekeln b anlagert, womit der Kristall mit einem neuen Material, aber isomorph, weiterwächst; oder aber die Kristallfläche wirkt als Kristallkeim für die Molekeln b, und es erfolgt eine orientierte Abscheidung des Materials in einer fremden Kristallform (B) auf der Unterlage (A). In diesem Falle sind aber die Koordinaten der neuen Kristallform (B) orientiert zu den Koordinaten des Kristalls (A).

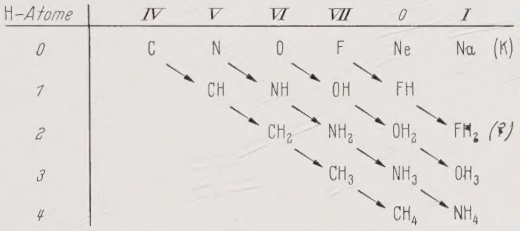
Im ersten Falle des isomorphen Weiterwachsens des Kristalls liegt zwischen den Molekeln a und b eine dreidimensionale Strukturverwandtschaft vor, d. h. die Molekeln a und b haben das gleiche elektrische Feld und annähernd die gleiche Größe. Die klassischen Beispiele hierfür sind, nach

Mitscherlich, die Isomorphie zwischen den Verbindungen KH_2PO_4 und KH_2AsO_4, oder zwischen den Alaunen

$$KAl(SO_4)_2 \cdot 12\,H_2O,$$
$$KCr(SO_4)_2 \cdot 12\,H_2O,$$
$$KFe^{\cdots}(SO_4)_2 \cdot 12\,H_2O.$$

Isomorphie tritt nun erfahrungsgemäß besonders häufig bei isosteren Verbindungen auf. Als einfaches Beispiel sei hier die Isomorphie zwischen den Verbindungen des Kaliums und denen des Ammoniums erwähnt: Die Gruppe NH_4 ist isoster mit K bzw. Na.

Aus dem Hydridverschiebungssatz von H. G. Grimm (1) läßt sich eine Reihe anderer isosterer Molekeln und Gruppen ablesen:



Wichtig ist dabei zu bemerken, daß Isosterie wohl besonders häufig zur Isomorphie führt, daß aber keine gesetzmäßigen Beziehungen zwischen diesen beiden Eigenschaften bestehen.

Auf Grund dieser Vorstellungen kann man vermuten, daß eine gewisse Beziehung besteht zwischen dem Differenzierungsvermögen der Kristalle und dem des Organismus, und es erscheint deshalb interessant, vergleichende pharmakologische Untersuchungen mit isomorphen bzw. isosteren Verbindungen auszuführen.

Als isoster müssen nach dem Hydridverschiebungssatz die Gruppen $-N=$ und $-CH=$ gelten. Entsprechend wurde auch Isomorphie festgestellt, z. B. zwischen Dimethylaminoantipyrin (Pyramidon) und Isopropylantipyrin, enthalten im Saridon (Erlenmeyer und Willi (2)), wo sich die Gruppen

$$\begin{matrix} H_3C \\ H_3C \end{matrix}\!>\!N- \quad \text{und} \quad \begin{matrix} H_3C \\ H_3C \end{matrix}\!>\!CH-$$

isomorph vertreten. Isoster sind auch im Acetylcholin und im Carbaminoylcholin (Doryl) die Gruppen

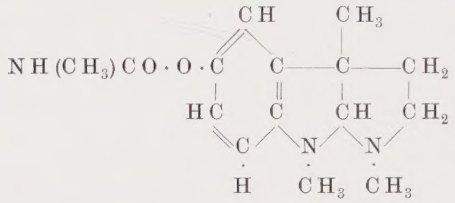
$$H_3C \cdot CO- \quad \text{und} \quad H_2N \cdot CO-,$$

wobei wir wissen, daß von der Acetylgruppe (beim isosteren Doryl von der $NH_2 \cdot CO$-Gruppe) die Stärke der pharmakologischen Wirkung abhängt, da beide Gruppen die Wirkungsstärke des einfachen Cholins um das Tausendfache und mehr steigern.

Bei einer anderen Verbindungsreihe mit der Gruppe

$$\begin{matrix} R \\ R \end{matrix}\!>\!N \cdot CO -,$$

den eserinähnlich wirkenden Carbaminsäureestern von Aminophenolderivaten, ist es nach den vorliegenden Angaben bedeutend schwieriger, die Stärke der Wirkung auf die Anwesenheit einer bestimmten chemischen Gruppe zurückzuführen. Wohl liegen Anhaltspunkte vor, daß speziell die Carbaminsäure bzw. die Urethangruppe für die Wirksamkeit dieser Stoffe und auch die des Physostigmins (I) von ausschlaggebender Bedeutung seien.

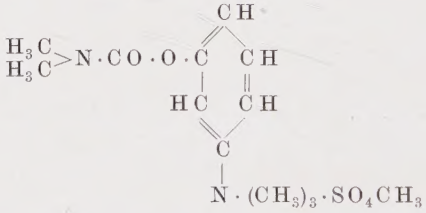


(I)

Physostigmin (Eserin), nach [Stedman und Barger (3)].

So schreibt Barger (4): „The fact that the physiological activity of physostigmine disappears on hydrolysis suggested to Stedman (5) that this activity was due to the urethane grouping. This hypothesis was soon confirmed by the synthesis of the urethanes of simpler phenolic bases, which were found to have a physiological activity quite simular to that of physostigmine itself."

Eine solche einfachere Phenolbase mit einer physiologischen Wirkung, die der des Physostigmins sehr ähnlich ist, stellt der im Handel befindliche Carbaminsäureester des 3-Oxyphenyltrimethylammoniummethylsulfats (6), das Prostigmin (II), dar.



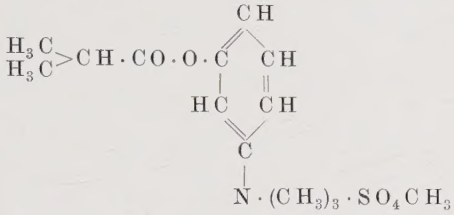
(II)

Prostigmin.

Man kann jedoch der Arbeit von Aeschlimann und Reinert (7) entnehmen, daß schon das durch Verseifung entstandene 3-Oxyphenyltrimethylammoniumjodid, das dem Prostigmin zugrunde liegt, physiologisch stark wirksam ist, obschon hier kein Urethan vorliegt.

In Anlehnung an die einleitend angeführte Arbeitshypothese untersuchten wir nun die pharmakologische Wirkung des zum Prostigmin isosteren Esters, der formal durch Ersatz des —N= in der Carbaminsäure-

gruppe durch ein —CH= entsteht. Dieses „isostere Prostigmin" hat also die Formel (III):



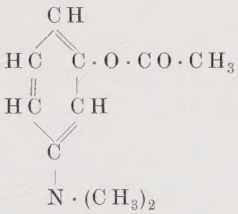
(III)

Isobutyrylester des 3-Oxyphenyltrimethylammoniummethylsulfats (im folgenden mit Bm bezeichnet).

Dieser Körper wurde dargestellt, und ebenso wurde, um Vergleichsmaterial zu gewinnen, die Synthese des Jodids der gleichen Verbindung und diejenige des Acetylesters des 3-Oxyphenyltrimethylammoniummethylsulfats und -jodids durchgeführt. In der chemischen Literatur liegen über diese Verbindungen noch keine Angaben vor. Die Acetylverbindung wird nur in der oben erwähnten Arbeit von Aeschlimann und Reinert (7) erwähnt, ohne daß über ihre Darstellung etwas gesagt wird.

Herstellung der Präparate.

Acet-3-Dimethylaminophenol (IV).



(IV)

Diese Verbindung läßt sich durch Vereinigen von 3-Dimethylaminophenol mit Essigsäureanhydrid darstellen [v. Goldberger (8), v. Meyenburg (9)]. Wir wählten aus Analogiegründen zu unseren späteren Versuchen an Stelle von Essigsäureanhydrid gereinigtes Acetylchlorid. 15 g fein zerriebenes 3-Dimethylaminophenol werden in einem Gemisch von 35 ccm Benzol und 40 g Pyridin gelöst. Sowohl Benzol als Pyridin müssen mehrmals destilliert und getrocknet werden. Zu dieser Lösung gibt man in einem Rundkolben tropfenweise Acetylchlorid zu; sofort tritt unter starker Erwärmung eine lebhafte Reaktion ein, bei der Pyridinchlorhydrat als braunrot verfärbter Niederschlag ausfällt. Die Reaktion wird durch Kühlen mit einer Eis-Kochsalzmischung reguliert. Man läßt den erhaltenen Brei einige Zeit stehen, nutscht dann ab und arbeitet Filtrat und Niederschlag in gleicher Weise, aber getrennt auf. Der Niederschlag löst sich leicht in wenig Wasser. Man versetzt mit verdünnter und einigen Tropfen konzen-

trierter Salzsäure und trennt vom Benzol ab. Hierauf wird die salzsaure Lösung mit Soda alkalisch gemacht und mit Äther ausgezogen. Zur Entfernung des unumgesetzten Dimethylaminophenols wird einmal mit etwa 20 ccm 2-n-NaOH gut durchgewaschen und das noch vorhandene Pyridin durch Waschen mit Wasser entfernt. Der schwach rosa gefärbte Äther wird nun über Calciumchlorid und Natriumsulfat 12 Stunden getrocknet und abgedampft. Es verbleibt eine braune ölige Flüssigkeit. Diese wird im Vakuum destilliert. Nach einem farblosen Vorlauf geht bei 11 mm Hg und 110° das Acet-3-Dimethylaminophenol als gelbliches Öl über und erstarrt sofort zu strahlenförmigen Kristallen, die erst weiß sind, sich aber nach einiger Zeit an der Luft gelblich färben.

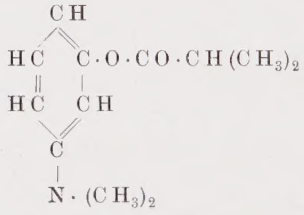
Schmelzpunkt: 36°.

Das zum Vergleich mit Acetanhydrid hergestellte Präparat hat einen Schmelzpunkt von 35,5°.

Siedepunkt: 268° (266°).

Ein Mischschmelzpunkt wurde gemacht.

Isobutyryl-3-Dimethylaminophenol (V),



(V)

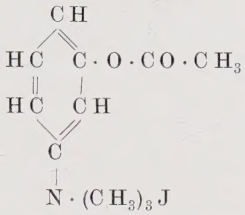
wird in ganz analoger Weise hergestellt, indem an Stelle von Acetylchlorid mehrfach destilliertes Isobutyrylchlorid zugetropft wird. Das bei der Ätherverdampfung zurückbleibende Öl geht über bei 12 mm Hg und 130°. Es erstarrt nicht kristallin.

Analyse: 4,069; 4,077 mg Substanz gaben 3,200; 3,180 mg H_2O und 10,365; 11,367 mg CO_2.
Ber.: H 8,67%, C 69,46%.
Gef.: H 8,21%, C 69,56%.

Die Verbindung ist löslich in Wasser, Äthanol, Aceton, Xylol, Dioxan; unlöslich in Benzol, Ligroin, Diäthyläther, Essigäther. Aus Dioxan und Äther läßt sich das Präparat kristallin gewinnen. Es sind lange, weiße, sehr hygroskopische Nadeln vom Schmelzpunkt 151°.

Aus diesen tertiären Basen lassen sich nun die quartären gewinnen, indem man z. B. die Jodmethylate oder die Methylsulfate dieser Verbindungen herstellt. Als Beispiel führen wir hier die Darstellung der Jodmethylate an.

Acetylester des 3-Oxyphenyltrimethylammoniumjodids (VI).



(VI)

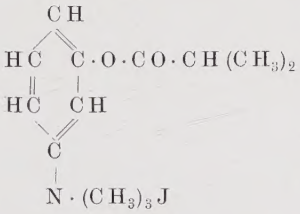
Man gibt in einem Rundkolben etwa molare Mengen von Acetyl-3-Dimethylaminophenol und von Jodmethyl in alkoholischer Lösung zusammen und läßt das Gemisch bei Zimmertemperatur stehen, nachdem man es auf dem Wasserbad kurze Zeit vorsichtig erhitzt hat. Nach einigen Stunden kristallisiert das Jodmethylat in langen gelben Nadeln aus, die durch zweimaliges Umkristallisieren aus absolutem Alkohol gereinigt werden. Die Kristalle sind jetzt weiß und beständig.

Schmelzpunkt: 174°.

Analyse: 4,600; 4,185 mg Substanz gaben 6,885; 6,270 mg CO_2 und 2,155; 1,975 mg H_2O.

$C_{11}H_{16}O_2NJ$. Ber.: C 41,25%, H 5,00%.
Gef.: C 40,86%, H 5,24%.

Isobutyrylester des 3-Oxyphenyltrimethylammoniumjodids (VIII).



(VII)

Diese Verbindung wird in ganz analoger Weise dargestellt und das Jodid in Form weißer, nadelförmiger Kristalle gewonnen.

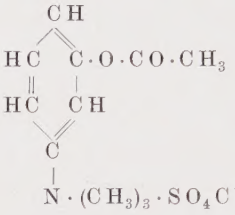
Schmelzpunkt: 167°.

Analyse: 3,830; 3,900 mg Substanz gaben 6,310; 6,435 mg CO_2 und 1,995; 2,005 mg H_2O.

$C_{13}H_{20}O_2NJ$. Ber.: C 44,82%, H 5,74%.
Gef.: C 44,93%, H 5,75%.

Die Methylsulfate der beiden tertiären Basen wurden durch Reaktion mit überschüssigem Dimethylsulfat, das durch Destillation frei

von Schwefelsäure gemacht worden war, nach leichtem Erhitzen auf dem Wasserbad gewonnen.



(VIII)

Acetylester des 3-Oxyphenyltrimethylammoniummethylsulfats (im folgenden mit Am bezeichnet).

Pharmakologische Prüfung der Präparate.

Wenn die eingangs erwähnte Annahme gelten soll, so müßte der Isobutyrylester des 3-Oxyphenyltrimethylammoniummethylsulfats (wir nennen ihn im folgenden Bm), obwohl kein Urethan, als isostere Verbindung des Prostigmins eine Wirksamkeit besitzen, die derjenigen des Prostigmins sehr ähnlich ist. Ferner müßte die eserinähnliche Wirkung von Bm deutlicher sein als die des Acetylesters des 3-Oxyphenyltrimethylammoniummethylsulfats (Am), dem die nach Barger (4) für die Wirkung maßgebende Urethangruppe bzw. in unserem Falle die ihr isostere Isobutyrylgruppe fehlt.

Zunächst wurden die Präparate einer allgemeinen, orientierenden pharmakologischen Prüfung unterzogen. Dabei zeigte es sich, daß zwischen den Jodmethylaten und den Methylsulfaten derselben Verbindung kein Unterschied in der physiologischen Wirksamkeit besteht. Es werden deshalb nur die Prüfungsprotokolle der Methylsulfate der Acetyl- bzw. der Isobutyrylverbindung angeführt und mit den entsprechenden Werten von Prostigmin verglichen.

1. Prüfung am isolierten Froschherzen.

An dem nach Straub isolierten Froschherzen bewirken sowohl Am als Bm und Prostigmin eine Abnahme der Amplitude. Die schwächsten Konzentrationen, welche eine solche Wirkung besitzen, sind:

für Am ..... 10^{-7}
für Bm ..... 10^{-8}
für Prostigmin ..... 10^{-6}

Höhere Konzentrationen haben stärkere Abnahme und schließlich Stillstand in Mittelstellung zur Folge. Die geringsten Konzentrationen, welche diese Wirkung haben, sind:

für Am ..... 10^{-2}
für Bm ..... 10^{-2}
für Prostigmin ..... $2 \cdot 10^{-4}$

2. Wirkung auf den Blutdruck.

Am urethannarkotisierten Kaninchen (1,2 g kg subcutan) bewirken alle drei Substanzen eine kurzdauernde Blutdrucksenkung. Die schwächsten Dosen, welche eine Senkung von mindestens 10 mm Hg machen, sind:

für Am	0,1 mg/kg
für Bm	0,025 mg/kg
für Prostigmin	0,025 mg/kg

3. Wirkung auf den isolierten Kaninchendarm.

Der in üblicher Weise in Tyrodelösung suspendierte isolierte Kaninchendünndarm kontrahiert sich nach Zugabe folgender schwächster Konzentrationen der drei geprüften Substanzen:

Am	10^{-3}
Bm	10^{-6}
Prostigmin	10^{-7}

4. Wirkung auf den Kaninchendarm in situ.

Auch hier tritt nach folgenden Minimalgaben der geprüften Substanzen Erregung auf:

Am	0,001 g/kg
Bm	0,0001 g/kg
Prostigmin	0,00005 g/kg

5. Prüfung am isolierten Meerschweinchenuterus.

In folgenden Minimalkonzentrationen wirken die drei Substanzen erregend auf den isolierten Meerschweinchenuterus:

Am	10^{-4}
Bm	$5 \cdot 10^{-4}$
Prostigmin	10^{-6}

6. Abführwirkung an der Maus.

Während bei peroraler Darreichung Am keine abführende Wirkung besitzt, wirkt Bm in Dosen von 5 mg pro 20 g Maus, Prostigmin jedoch schon in Dosen von 0,1 mg pro 20 g Maus stark abführend.

7. Wirkung auf die Pupille.

Die Wirkung auf die Pupillenweite wurde am Kaninchen und an der Katze durch Einträufeln einer 1 %igen Lösung ins Auge geprüft. Am ist wirkungslos. Bm und Prostigmin erzeugen eine deutliche Miose, wobei die Wirkung von Prostigmin etwas anhaltender ist.

8. Toxizität.

Die Giftigkeit der Präparate wurde am Kaninchen bei intravenöser Zufuhr geprüft. Die kleinsten tödlichen Dosen waren:

für Am	0,15	g/kg
für Bm	0,005	g/kg
für Prostigmin	0,000 05	g/kg

Ein Überblick über diese allgemeine pharmakologische Prüfung zeigt, daß die beiden Substanzen Am und Bm gleichartig wirken wie Prostigmin. Am ist, entsprechend der aufgestellten Arbeitshypothese, durchweg schwächer wirksam als Bm, während letzteres nur in seiner Blutdruckwirkung und am isolierten Froschherzen die Wirksamkeit des Prostigmins erreicht.

9.

Die Substanzen wurden weiter auf ihre spezifische Wirkung der Cholinesterasehemmung vergleichend untersucht. Wir benutzten dazu die Auswertung am Blutegelpräparat [Führer (10), Minz (11)].

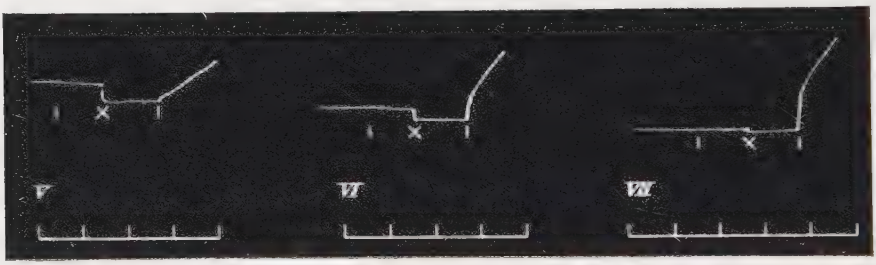


Abb. 1.

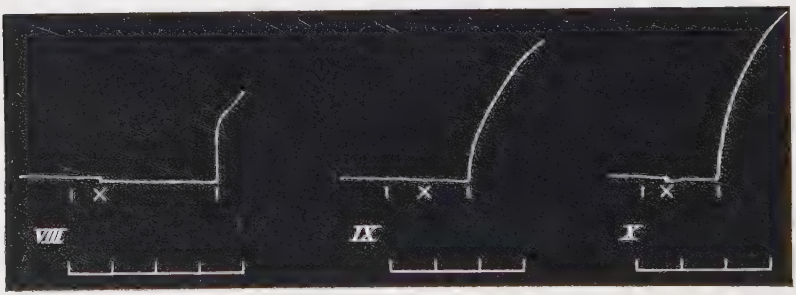


Abb. 2.

Legende zu Abb. 1 und 2: Protokoll-Nr. 25. Kleinste wirksame Acetylcholinkonzentration am unvorbehandelten Präparat: $5 \cdot 10^{-4}$.

Versuch V: 1. Strich = Zugabe von 10 γ/ccm Bm, bei × wurde das Kymographion 15′ angehalten. 2. Strich = Zugabe von Acetylcholin 10^{-5}.
„ VI: Dasselbe mit Zugabe von 20 γ/ccm Bm.
„ VII: „ „ „ „ 30 γ/ccm Bm.
„ VIII: „ „ „ „ 40 γ/ccm Bm.
„ IX: „ „ „ „ 50 γ/ccm Bm.
„ X: „ „ „ „ 60 γ/ccm Bm.
Zeitschreibung: 1 Minute.

und ferner bestimmten wir die Spaltungsgeschwindigkeit des Acetylcholins nach der Methode von Ammon (12) im Warburg-Apparat.

a) Der Rückenmuskel des Blutegels wird mit den üblichen Kautelen präpariert und in Ringerlösung suspendiert. Nachdem die Empfindlichkeit dieses Präparats gegenüber Acetylcholin festgestellt ist, wird es mit der zu prüfenden Substanz vorbehandelt, und hierauf wieder die kleinste wirksame Dosis Acetylcholin ermittelt. Dabei können wir die Dosen der eserinartigen Substanz variieren und die Acetylcholinmenge unverändert lassen. An der Höhe des Ausschlags des Schreibhebels hat man dann ein Maß für die Stärke der esterasehemmenden Wirkung. Die Abb. 1 und 2 zeigen ein Beispiel für diese Art der Prüfung.

Da aber die Höhe des Hebelausschlags nicht genau quantitativ zu verwerten ist, gehen wir besser so vor, daß wir die Menge der Substanz, mit welcher wir das Präparat vorbehandeln, für alle Versuche gleich groß wählen, und dann die kleinstwirksame Menge Acetylcholin bestimmen, die noch eine Kontraktion erzeugt. Wir wählten für Prostigmin, Am und Bm eine einheitliche Konzentration von $5 \cdot 10^{-4}$, da Am in stärkerer Verdünnung nicht mehr wirksam ist. Die Blutegelpräparate wurden je 15 Minuten vorbehandelt. Die Resultate sind in den folgenden Tabellen zusammengestellt.

Tabelle 1. Bestimmung der schwächsten wirksamen Acetylcholinkonzentration am unvorbehandelten Blutegelpräparat.

Prot.-Nr.	Konzentration	γ/ccm	Prot.-Nr.	Konzentration	γ/ccm	Prot.-Nr.	Konzentration	γ/ccm
20	10^{-5}	10	31	$2 \cdot 10^{-4}$	50	43	$5 \cdot 10^{-4}$	20
21	10^{-5}	10	32	10^{-5}	10	45	10^{-3}	1000
22	10^{-5}	10	33	10^{-4}	100	46	10^{-4}	1000
23	$5 \cdot 10^{-4}$	20	34	10^{-3}	1000	47	$5 \cdot 10^{-4}$	20
24	10^{-4}	100	35	$5 \cdot 10^{-3}$	200	48	10^{-5}	10
26	$5 \cdot 10^{-4}$	20	37	10^{-4}	100	49	$5 \cdot 10^{-4}$	20
27	10^{-5}	10	38	10^{-3}	1000	51	10^{-5}	10
28	$2 \cdot 10^{-3}$	500	40	$5 \cdot 10^{-3}$	200	52	$5 \cdot 10^{-4}$	20
29	$5 \cdot 10^{-4}$	20	41	10^{-5}	10	53	10^{-5}	10
30	10^{-5}	10	42	10^{-5}	10			

Mittelwert: 158,6 γ/ccm. Mittlerer Fehler: $\varepsilon = 58$. (In 55% der Fälle lag die kleinste wirksame Dosis zwischen 10 und 20 γ/ccm.)

In gleicher Weise wurde die schwächste wirksame Acetylcholinkonzentration ermittelt, nachdem das Blutegelpräparat mit Am, Bm und mit Prostigmin vorbehandelt worden war. Tabelle 2 zeigt eine Zusammenstellung der aus diesen Versuchsresultaten gewonnenen Mittelwerte.

Tabelle 2. Bestimmung der schwächsten Acetylcholinkonzentration, die am Rückenmuskelpräparat des Blutegels eine deutliche Kontraktion hervorruft.

Am unvorbehandelten Blutegelpräparat	$158{,}6 \pm 58$	γ/ccm	Ringer
„ mit „Am“ vorbehandelten Blutegelpräparat ...	$79{,}3 \pm 17{,}7$	„	„
„ „ „Bm“ „ „ ...	$57{,}6 \pm 10{,}6$	„	„
„ „ Prostigmin vorbehandelten Blutegelpräparat	$14{,}2 \pm 5{,}6$	„	„

Die starke Streuung dieser Resultate kommt daher, daß die vier Blutegelpräparate mit den Protokollnummern 34, 38, 45 und 46 stark aus der Reihe fallen und durchweg, auch nach Vorbehandlung mit den geprüften Substanzen, eine relativ viel geringere Empfindlichkeit gegenüber Acetylcholin zeigten als die übrigen Präparate.

b) Bei der Bestimmung der Cholinesterasehemmungsfähigkeit einer Substanz nach Ammon (12) wird die bei der Acetylcholinspaltung frei werdende Kohlensäure quantitativ gemessen. Wir prüften die Cholin-

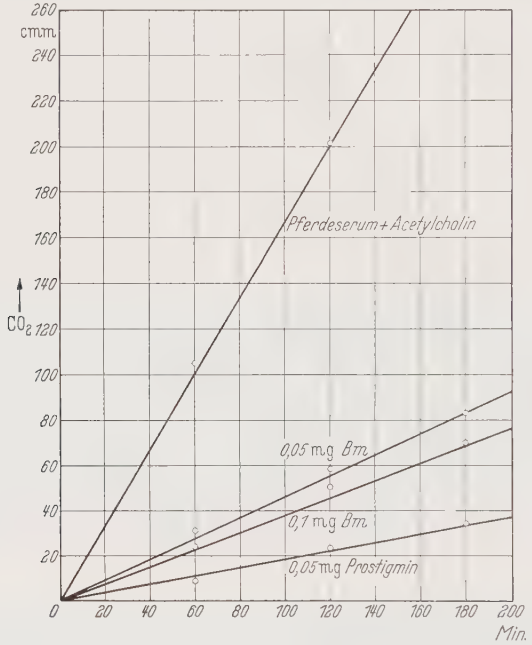


Abb. 3. Acetylcholinspaltung durch Pferdeserum allein, mit Zusatz von Prostigmin und mit Zusatz von Isobutyryl-3-Oxyphenyltrimethylammoniummethylsulfat (Bm).

esterasehemmung durch die genannten Präparate in frischem Pferde- und Menschenserum. Der Versuch begann stets ungefähr $1^1/_2$ Stunden nach der Blutentnahme. Jedoch zeigten Vergleichsuntersuchungen, daß die Cholinesterase noch nach 5 Tagen in gleicher Aktivität im Serum vorhanden ist, wenn dieses im Eisschrank unter Toluol aufbewahrt wird.

Der Spaltungsverlauf war stets linear. Die Eigenhydrolyse des Acetylcholins (Acetylcholinchlorid „Roche") betrug in unseren Versuchen 3—4,5 cmm CO_2 nach 60 Minuten und konnte bei der Bewertung der Ergebnisse vernachlässigt werden. Die angegebenen Werte sind stets auf ein Gesamtvolumen von 2 ccm bezogen, die sich in je einem Trog des Warburg-Apparates befanden (0,5 ccm Serumlösung + 1,5 ccm Acetyl-

cholinchloridlösung, was bei den angewandten Verdünnungen einer Gesamtkonzentration an Acetylcholin von 0,375 % und an Serum von 0,5 % entspricht). Temperatur im Thermostaten: 37,6° C.

Die Resultate sind im folgenden tabellarisch zusammengestellt. In Abb. 3 ist als Beispiel für den Verlauf eines solchen Spaltungsvorgangs die Acetylcholinspaltung durch Pferdeserum allein und mit Zusatz von Bm und von Prostigmin graphisch dargestellt.

Tabelle 3.

Pferdeserum	+ Acetylcholin entwickeln nach 2 Stunden	202	cmm CO_2
„	+ Ac.-ch. + Am 0,05 mg entwickeln nach 2 Std. .	80	„ „
„	+ „ + Am 0,1 „ „ „ 2 „ .	74	„ „
„	+ „ + Am 0,2 „ „ „ 2 „ .	55	„ „
„	+ „ + Bm 0,05 „ „ „ 2 „ .	56	„ „
„	+ „ + Bm 0,1 „ „ „ 2 „ .	46	„ „
„	+ „ + Prostigmin 0,05 mg entwickeln nach 2 Stunden	23	„ „
Menschenserum	+ „ entwickeln nach 2 Stunden	153	„ „
„	+ „ + Am 0,05 mg entwickeln nach 2 Std. .	110	„ „
„	+ „ + Am 0,1 „ „ „ 2 „ .	98	„ „
„	+ „ + Am 0,2 „ „ „ 2 „ .	80	„ „
„	+ „ + Bm 0,05 „ „ „ 2 „ .	90	„ „
„	+ „ + Bm 0,1 „ „ „ 2 „ .	69	„ „
„	+ „ + Bm 0,2 „ „ „ 2 „ .	55	„ „
„	+ „ + Prostigmin 0,05 mg entwickeln nach 2 Stunden	9	„ „

Ein Überblick über diese letzten Versuchsresultate zeigt, daß sowohl der Acetyl- wie auch der Isobutyrylester des 3-Oxyphenyltrimethylammoniummethylsulfats bzw. -jodids die charakteristische Eigenschaft des Physostigmins und des Prostigmins, die Cholinesterase im Blutserum zu hemmen, besitzen. Ferner vermögen die genannten Verbindungen die Empfindlichkeit des Blutegelpräparats gegenüber Acetylcholin zu steigern. Prostigmin ist jedoch den beiden andern geprüften Substanzen überlegen. Immerhin deckt es sich mit unserer Arbeitshypothese, daß das Isobutyryl-3-Oxyphenyltrimethylammoniummethylsulfat als isostere Verbindung des Prostigmins diesem in seiner Wirkung näher kommt als die Acetylverbindung.

Die Versuche zeigen aber auch, daß die eserinartige Wirkung eines Körpers nicht nur, wie Barger (4) dies fordert, an dessen Eigenschaft als Urethan (bzw. als Isosteres eines Urethans) gebunden sein kann, sondern daß auch eine einfache quartäre Phenolbase (wie unsere Acetylverbindung) diese Wirkung, wenn auch in viel schwächerem Maße, aufweisen kann. Sicher spielt die Urethaneigenschaft eine wichtige Rolle, sie kann jedoch nicht allein verantwortlich gemacht werden.

Zusammenfassung.

1. Es wird als Arbeitshypothese angenommen, daß pharmakologische Wirkung und spezifische Adsorption häufig parallel gehen.

2. Ausgehend vom Hydridverschiebungssatz wird angenommen, daß isomorph sich vertretende Moleküle oder Gruppen vom Organismus schlecht differenziert werden, so daß sie ähnliche physiologische Wirksamkeit besitzen. Dafür werden Beispiele angeführt.

3. Es wird die Darstellung des Isobutyryl-3-Oxyphenyltrimethylammoniummethylsulfats, eines Isosteren des Prostigmins, und einiger anderer neuen Verbindungen beschrieben.

4. Ihre pharmakologische Wirkung, sowie die des Prostigmins wird am isolierten Froschherzen, am Blutdruck des Kaninchens, am isolierten Meerschweinchenuterus und Kaninchendarm und am Kaninchendarm in situ untersucht; ferner werden die miotische Wirkung an der Pupille des Kaninchens und der Katze, die abführende Wirkung an der Maus und die Toxizität ermittelt. Ihre cholinesterasehemmende Wirkung wird mit dem Blutegeltest und im Warburg-Apparat quantitativ bestimmt.

5. Es zeigt sich, daß keine der Substanzen die Wirksamkeit des Prostigmins erreicht. Jedoch ist entsprechend der aufgestellten Arbeitshypothese die dem Prostigmin isostere Verbindung stärker wirksam als die zum Vergleich untersuchte Acetylverbindung.

Literatur.

1) Grimm, H. G., M. Günther u. H. Tittus: Z. physik. Chem. (B) **14**, 169 (1931). — 2) Erlenmeyer, H., u. E. Willi: Helv. Chim. Acta **18**, 740 (1935). — 3) Stedman, E., u. G. Barger: J. Chem. Soc. **127**, 247 (1925). — 4) Barger, G.: Festschrift E. Barell, S. 10, Basel 1936. — 5) Stedman, E.: Biochem. J. **20**, 719 (1936). — 6) Aeschlimann, J. A., u. M. Reinert: J. Pharmacol. (Am.) **4** , 413 (1931). — 7) White, A. C., u. E. Stedman: Ebenda **41**, 259 (1931). — 8) Goldberger, L. v.: Diss. Zürich, Budapest 1892. — 9) Meyenburg, F. v.: Ber. dtsch. chem. Ges. **29**, 501 (1896). — 10) Fühner, H.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **82**, 81 (1918). — 11) Minz, B.: Ebenda **168**, 292 (1932). — 12) Ammon, R.: Pflügers Arch. **233**, 486 (1933).

Druck von Friedr. Vieweg & Sohn in Braunschweig
Printed in Germany